مقاله پژوهشی

بررسی مولکولی فعالیت مجدد ویروس BK در ادرار بیماران پیوند کلیه

مریم ایمانی [۱]، دکتر علی غفاری مقدم [۲]، دکتر خدیجه مخدومی [۳]، دکتر علی تقی زاده افشاری [٤]، دکتر مرتضی متذکر* [٥]

تاریخ دریافت: ۷ تیر ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: ۱۹ مرداد ۱۳۹۰

چکیده

پیش زمینه و هدف: ویروس BK متعلق به خانواده پولیوما ویریده می‌باشد که اغلب در دوران کودکی باعث الودگی در انسان می‌شود. این ویروس در کلیه‌ها به صورت نهفته باقی می‌ماند. حضورBKV در ادرار بیماران پیوند کلیه ۵۷-۳۵درصد و در سرم این بیماران ۲۹-۶ درصد تخمین زده شده است. حضور تیتر بالای ویروس BK در خون این بیماران عامل اصلی نفروپاتی و در نتیجه باعث اختلال عملکرد بافت پیوندی شده و می‌تواند منجر به دفع آن گردد. هدف از این مطالعه بررسی میزان فعالیت مجدد ویروس BK با روش مولکولی در بیماران کلیوی و ارتباط شیوع آن با ریسک فاکتورهای سن، جنس، مدت زمان بعد از پیوند، مدت زمان دیالیز، داروهای ایمنوساپرسیو، دوره رد حاد پیوند و دیابت در این بیماران است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر روی ۱۳۰ بیمار پیوند کلیه مراجعه کننده به درمانگاه نفرولوژی بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه انجام گرفت. دفع ادراری ویروس BK در نمونه‌های ادراری این بیماران با روش واکنش زنجیره‌ای پلی مرازی (PCR) مورد تشخیص قرار گرفت.

یافته‌ها: از ۱۳۰ نمونه ادرار بیماران پیوند ویروس BK در ۲۶ (۲۰درصد) نمونه از بیماران مثبت بود. میانگین مدت زمان تشخیص ویروس BK در بیماران مثبت در ۳۰ ماه نخست پیوند می‌باشد (P=۰/۰۱). رابطه معنی‌داری مابین فراوانی دفع ویروس BK در ادرار با سن، جنس، مدت زمان بعد از پیوند، مدت زمان دیالیز، داروهای ایمنوساپرسیو، دوره رد حاد پیوند، میزان کراتنین و دیابت مشاهده نگردید.

بحث و نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان دهنده فعالیت ویروس BK در یک پنجم بیماران پیوند کلیه مراجعه کننده به درمانگاه نفرولوژی بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه می‌باشد. تشخیص ویروس BK با روش مولکولی می‌تواند ضمن تشخیص سریع‌تر موجبات پیشگیری از نفروپاتی حاصل از ویروس BK و از دست دادن بافت پیوندی را فراهم آورد.

کلید واژه‌ها: ویروس BK، بیماران پیوند کلیه، ادرار و PCR

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره چهارم، ص ۲۹۶-۲۹۰، مهر و آبان ۱۳۹۰

آدرس مکاتبه:ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه ویروس شناسی، تلفن: ۰۴۴۱-۲۲۳۱۹۳۰

E-mail: motazakker@yahoo.com

مقدمه

در خانواده پولیوما ویروس‌ها سه جنس بیماری‌زای انسانی وجود دارد. ویروس‌های JC،BK و SV40 از اعضاء خانواده پولیوماویریده و از جنس پولیوما ویروس‌ها هستند. این ویروس‌ها دارای ژنوم DNA حلقوی دو رشته‌ای کوچک با قطر ۴۰-۴۵ نانومتر و بدون پوشش می‌باشند (۱). ژنوم DNA ویروسی تقریباً از ۵۰۰۰ باز تشکیل شده است که دارای شش ژن و سه ناحیه فعال می‌باشد: ناحیه کدگذاری اولیه[۶]، ناحیه کدگذاری آخری[۷] و منطقه تنظیمی غیر کدکننده[۸] (۲). ناحیه کدگذاری اولیه قبل از سنتز DNA نسخه برداری شده و بعد آنتی ژن‌های توموری بزرگ[۹] و

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

[۲] فوق تخصص نفرولوژی، مرکز تحقیقات نفروارولوژی و پیوند، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[۳] دانشیار گروه نفرولوژی، مرکز تحقیقات نفروارولوژی و پیوند، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[٤] استاد گروه ارولوژی و پیوند کلیه، مرکز تحقیقات نفروارولوژی و پیوند، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[٥] استادیار گروه ویرولوژی، مرکز تحقیقات نفروارولوژی و پیوند، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

[۶] the early coding region

[۷] the late coding region

[۸] the non-coding control region

[۹] Larg tumor antigen (TAg)

www.SID.ir

آنتی‌ژن‌های توموری کوچک[1] را کدگذاری می‌کنند سپس منطقه کدگذاری آخری، بعد از سنتز DNA نسخه برداری شده و پروتئین‌های کپسید ویروسی VP1,VP2, VP3 و آگنو پروتئین‌ها را کدگذاری می‌کنند. تصور می‌شود که آنتی‌ژن بزرگ T نقش مهمی را در عفونت ایفا می‌کند (۳). پولیوما ویروس‌های انسانی ۷۵-۶۹درصد همانندی را با ویروس SV40 که ممکن است باعث بیماری در انسان شود را دارند (۴).

تقریباً ۱۰۰-۸۰ درصد از افراد سالم آنتی‌بادی علیه این ویروس‌ها را در سرم خود دارند و معمولاً عفونت با این ویروس‌ها بدون علامت می‌باشد (۲). هرچند این درصد در بین افراد با توجه به وضعیت اقتصادی و اجتماعی و عوامل دیگر متغیر است (۵).

در بسیاری از مطالعات ویروس BK را عامل عفونت از اوایل کودکی گزارش کرده‌اند به‌طوری که ۹۰تا ۶۵ درصد موارد آلودگی با این ویروس تا سنین ۵ تا ۱۰ سالگی رخ می‌دهد و مقدار ناچیزی تا بزرگسالی افزایش می‌یابد (۶).

بعد از عفونت اولیه، این ویروس‌ها به‌عنوان عفونت نهفته در بسیاری از ارگان‌ها به‌ویژه کلیه‌ها و دستگاه ادراری باقی می‌مانند و تحت شرایطی مثل ایجاد نقص سیستم ایمنی از جمله ایدز و پیوند عضو باعث فعالیت مجدد این ویروس‌ها و ایجاد بیماری می‌شوند. فعالیت مجدد BKV عمدتاً باعث بیماری‌های مربوط به دستگاه ادراری از جمله کیست‌های خون‌ریزی دهنده و نفریت می‌شود به‌طوری‌که حضورBKV در ادرار بیماران پیوند کلیه ۵۷-۳۵درصد و در سرم این بیماران ۲۹-۶درصد تخمین زده شده است که حضور مقدار زیادBKV در خون این بیماران عامل اصلی نفروپاتی و در نتیجه باعث اختلال عملکرد بافت پیوندی می‌شود (۴،۷).

هدف از این مطالعه بررسی میزان فعالیت مجدد ویروس BK در ادرار بیماران پیوند کلیه با روش مولکولی و بررسی عوامل مختلف برای فعالیت مجدد این ویروس در بیماران پیوند کلیه می‌باشد.

مواد و روش کار

جمعیت مورد مطالعه:

این مطالعه بر روی نمونه ادرار ۱۳۰ بیمار پیوند کلیه بیمارستان امام خمینی (ره) ارومیه صورت گرفت. طرح پژوهشی فوق در کمیته اخلاق منطقه‌ای دانشگاه مورد تصوب قرار گرفته و از همه بیماران جهت شرکت در مطالعه رضایت آگاهانه کسب گردید. شرکت کنندگان شامل ۵۰ زن و ۸۰ مرد با میانگین سنی ۴۲/۱۸ (۷۴-۸) بودند. از این تعداد ۱۷ بیمار مبتلا به دیابت قبل از پیوند بودند. ۱۰۷ بیمار ترکیبی از سه داروی ایمنو ساپرسیو پردنیزولون وسیکلوسپورین و میکوفنولات موفتیل و ۲۳ بیمار از سه داروی ایمنوساپرسیو پردنیزولون وسیکلوسپورین و آزاتیوپرین استفاده می‌کردند. از کل بیماران ۳۲ بیمار بعد از پیوند دوره رد حاد پیوند داشتند. ۴۳ بیمار داروی ضد ویروسی گان سیکلوویر و ۲۰ بیمار اسیکلوویر و ۹ بیمار هر دو دارو را دریافت کرده بودند. میانگین مدت زمان دیالیز قبل از پیوند در این بیماران (۱۳۲-۰) ۱۵/۸۸ ماه، میانگین کراتنین (۴/۴۵-۰/۶) ۱/۴۲mg/dl، میانگین مدت زمان بعد از پیوند (۳۲۴-۱) ۵۰/۲۲ ماه بود.

استخراج DNA ویروسی:

همه نمونه‌های ادراری بعد از جمع‌آوری در ظرف نگهدارنده تا حداکثر دو روز در ۲۰- درجه سانتی‌گراد جمع‌آوری شده و سپس برای نگهداری به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت QIAamp DNA Mini Kit و مطابق روش مندرج در کیت انجام گردید.

انجام PCR با DNA استخراج شده از نمونه‌های ادراری:

DNA ویروسی از ناحیهLT-Antigen با روش PCR تکثیر داده شد. برای انجام این آزمایش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، مقدار ۵ میکرولیتر از DNA استخراجی و ۰/۵ میکرولیتر از ۲۵dNTP میلی مولار، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای Pep2 (5'-AGTCTTTAGGGTCTTCTACC-3')وPep1(5'-GGTGCCAACCTATGGAACAG-3') با غلظت ۱۰ پیکومول ۱/۵میلی مولار از منیزیم کلراید ۵۰ میلی مولار، ۱U از آنزیم Taq، ۲/۵میکرولیتر از بافر ۱۰x و برای جلوگیری از تبخیر ۲۵میکرولیتر از روغن معدنی استفاده کردیم. واکنشPCR با شرایط ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، ۹۵درجه به مدت ۱۰ ثانیه، ۵۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه در ۴۵ سیکل و ۷۲ درجه به مدت هفت دقیقه انجام شد. برای مشاهده محصول PCR (باندهای ۱۷۳ و۱۷۶ جفت باز) از رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید و اگاروز ۲درصد و ولتاژ ۱۰۰ استفاده شد (۸،۶) (شکل۱).

انجام PCR بااستفاده از نمونه مستقیم ادرار بیماران:

در این حالت واکنش PCR با مقایر ذکر شده ولی از دو میکرولیتر از نمونه ادرار به‌عنوان الگو استفاده شد (۹).

روشRFLP برای تشخیص ویروس BK:

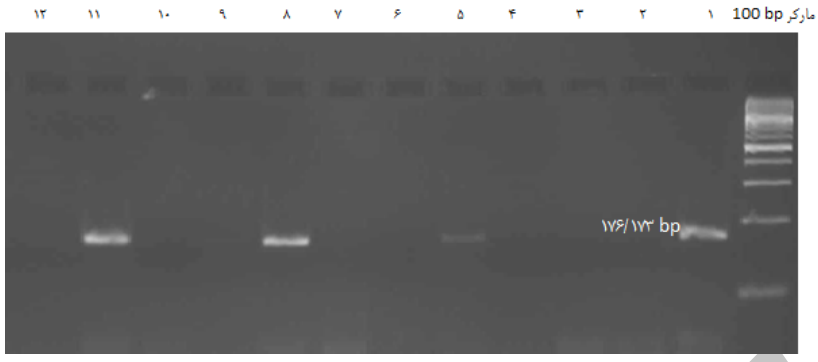
با توجه به امپلیفیکاسیون ناحیه ژنی مورد نظر هر دو ویروس BKوJC با پرایمرهای ذکر شده و با اختلاف فقط سه بار جهت تمایز ویروس‌های BK و JC از دو آنزیم محدود الاثر استفاده گردید. مقدار یک میکرولیتر از آنزیم BamH1 (15u/µl) با ۱۰ میکرولیتر از محصول مثبت PCR به همراه دو میکرولیتر از بافر ۱۰X در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به مدت ۴ ساعت در دمای

[1] small tumor antigen (tAg)

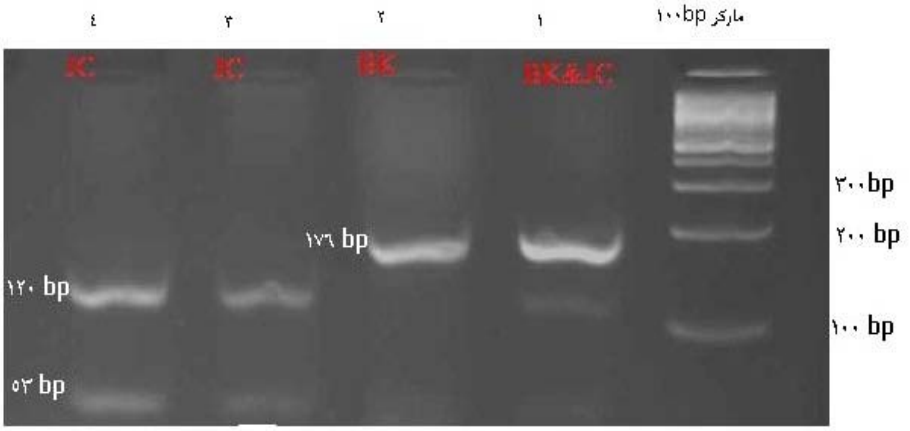
Archive of SID

www.SID.ir

۳۷درجه سانتیگراد انکوبه شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از محصول بر روی آگاروز ۳درصد و ولتاژ ۱۰۰ولت ران شد. قطعه تکثیر شده ۱۷۳ جفت بازی ویروس JC با BamH1 به دو قطعه به طول‌های ۱۲۰ و ۵۳ جفت باز تقسیم شد. ولی این آنزیم در ژنوم تکثیر یافته ویروسBK سایت برشی ندارد (۸) (شکل۲).



شکل شماره (۱): الکتروفورز محصولات PCR از نمونه‌های ادراری بیماران پیوند کلیه. ستون M مارکر ۱۰۰bp و ستون‌های ۱۱،۸،۵،۱ نمونه‌های مثبت برای پولیوما ویروس‌ها می‌باشند و ستون‌های ۱۰،۹،۷،۶،۴،۳،۲ نمونه‌های منفی هستند و ستون ۱۲ مربوط به محصول PCR بدون DNA الگو می‌باشد.



شکل شماره (۲): الکتروفورز محصولات برش خورده با آنزیم BamH1

یافته‌ها

از ۱۳۰ بیمار دریافت کننده کلیه در این مطالعه (۶۱/۵درصد) ۸۰ مورد مرد و (۳۸/۵درصد) ۵۰ مورد زن بودند. میانگین سنی بیماران (۷۴-۸) ۴۲/۱۸ بود. با استفاده از روش PCR دفع ویروس BK در ادرار ۲۶ بیمار (۲۰درصد) مثبت تشخیص داده شد. موارد مثبت در ۱۶بیمار مرد (۲۰درصد مردان) و ۸ بیمار زن (۱۸درصد زنان) مشخص گردید. در این مطالعه تفاوت جنسیتی مشخصی در میزان فراوانی ویروس مشاهده نشد. میانگین سنی در افراد BK مثبت و منفی به ترتیب (۱۳/۹±۴۵) سال و (۱۳/۵±۴۱/۳) سال بوده است. (P=۰/۲). دو گروه دریافت کنندگان پیوند مثبت و منفی ویروس از جهت میانگین مدت زمان پس از پیوند مورد ارزیابی قرار گرفتند. این زمان در بیماران مثبت برای ویروس BK (۴۲/۴±۳۰) ماه بود. در حالی که میانگین مدت زمان پس از پیوند در بیماران منفی (۵۹/۱±۵۵) ماه می‌باشد که این تفاوت در بررسی آماری کاملا معنی‌دار می‌باشد (P=۰/۰۱). فراوانی موارد مثبت دفع ویروس با توجه به مدت زمان‌های سپری شده از انجام پیوند در بیماران مورد بررسی قرار گرفت. این فراوانی در ماه‌های ۱-۶ پس از پیوند ۳۱درصد و در ماه‌های ۷-۱۲ پس از پیوند ۳۳/۸درصد و در ماه‌های ۱۳-۲۴ پس از پیوند ۲۱/۴درصد و در بعد از ۲۴ ماه پس از پیوند ۱۲/۳درصد می‌باشد (P=۰/۱۷).

همچنین دریافت کنندگان از جهت میانگین مدت زمان دیالیز قبل از پیوند و ارتباط این موضوع با میزان شیوع ویروس مورد

www.SID.ir

ارزیابی قرار گرفتند. میانگین در بیماران مثبت برای ویروس BK (۱۴/۴±۱۰/۹۸) ماه و در بیماران منفی(۱۶/۴۱±۱۶/۳۱) ماه بود (P=۰/۵۷).

میزان کراتینین سرم هم‌زمان با نمونه‌گیری ادراری در بیماران مثبت و منفی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. این میزان در بیماران مثبت BK(۱/۴۲±۰/۵۸ mg/dl) و در بیماران منفی برای ویروس BK(۱/۴۳±۰/۴۵ mg/dl) ثبت گردید (P=۰/۳).

بررسی ارتباط بین فعالیت ویروس در کلیه با نوع رژیم ایمنوساپرسیو مصرفی در دریافت کنندگان پیوند در این مطالعه نشان داد که فراوانی ویروس BK در بیماران استفاده کننده از داروهای پردنیزولون – سیکلوسپورین A – مایکوفنولات موفیتیل ۲۱/۵درصد و در بیماران استفاده کننده از داروهای ایمنوساپرسیو پردنیزولون – سیکلوسپورین A – آزاتیوپرین ۸/۷ درصد می‌باشد (P=۰/۱۵).

از ۱۳۰ دریافت کننده کلیه مورد مطالعه (۱۳درصد) ۱۷ مورد مبتلا به دیابت وجود داشت. این بررسی نشان داد که شیوع دفع ادراری ویروس BK در بیماران دیابتی (۲۳/۵درصد) و در غیردیابتی‌ها ۱۸/۶درصد است (P=۰/۶۳).

فراوانی دفع ویروس BK در دریافت کنندگان پیوند با توجه به نوع داروی آنتی‌ویرال مصرفی مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های پژوهش نشان داد که این فراوانی در گروه اول بیمارانی که اسیکلوویر استفاده می‌کردند ۲۰درصد، در مصرف کنندگان گانسیکلوویر ۲۷/۹درصد، در گروه سوم که اسیکلوویر و گانسیکلوویر با هم مصرف کرده بودند ۳۳/۳درصد و گروه چهارم هیچ داروی آنتی‌ویرالی دریافت نکرده بودند ۱۰/۳درصد بود (p=۰/۱).

بحث

پولیوما ویروس‌های انسانی (BK و JC) بعد از عفونت اولیه در زمان کودکی در بدن به صورت نهفته باقی می‌مانند و شرایط نقص سیستم ایمنی همچون پیوند عضو و بیماری ایدزمیتواند منجر به فعالیت دوباره ویروس‌ها شوند. فعالیت مجدد ویروس BK باعث نفروپاتی در بیماران پیوند کلیه شده و در نهایت باعث اختلال عملکرد بافت کلیه و رد عضو پیوندی می‌شود (۱۰). تشخیص وجود پولیوما ویروس‌ها با استفاده از شناسایی میکروسکوپی سلول‌های اپیتلیال کلیوی حاوی انکلوزیون‌های ویروسی Decoy cell از نمونه‌های ادراری یا تغییرات پاتولوژیک در بیوپسی بافت کلیه به روش روتین و معمول در آمده اما ارزش تشخیصی این روش به دلیل افتراق ندادن نوع ویروس‌های BK از JCV کاهش می‌یابد. در سال‌های اخیر بکارگیری روش‌های مولکولی تشخیص ژنومی ویروس‌ها ضمن افتراق نوع ویروس امکان اندازه‌گیری کمی تیتر ویروس در ادرار یا خون بیماران را فراهم نموده‌اند و به‌طور افزایش یابنده‌ای در مراکز معتبر پیوند مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به مطالعات معدود کشوری و منطقه‌ای که در راستای شناسایی ویروس BK در بیماران کلیوی صورت گرفته برآن شدیم تا فراوانی دفع ادراری (ویروری) این ویروس را با روش مولکولی مورد بررسی قرار دهیم.

در تحقیق حاضر ژنوم ویروس BK در ادرار ۲۶ بیمار یعنی ۲۰درصد دریافت کنندگان پیوند با روش PCR مثبت تَشخیص داده شد. با توجه به مطالعات مروری صورت گرفته توسط Pangدر سال ۲۰۰۷، Reploeg در سال ۲۰۰۱و Kazory در سال ۲۰۰۳ و چند مطالعه دیگر شیوع ویروس BK را ۵۷-۳۰ درصد ادرار بیماران پیوند کلیه گزارش کرده‌اند (۱۴،۱۵،۹). در مطالعه بوهل و همکارانش در سال ۲۰۰۷ شیوع ویروس BK در ادرار ۴۴-۱۸درصد گزارش گردیده است. در کشورمان مطالعه گرامی زاده و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در شیراز با روش سیتولوژیک و بررسی دیکوی سل‌ها در نمونه ادرار بیماران با رنگ آمیزی پاپانیکولا شیوع ویروس BK را در بیماران پیوند کلیه آن مرکز ۲۶/۶درصد گزارش کردند (۱۱). در آن مطالعه رابطه معنی‌داری بین مدت زمان پس از پیوند و شیوع این ویروس به دست آورند. دکتر غفاری مقدم در شهرستان ارومیه با روش ایمنوهیستو شیمی از بیوپسی بافت کلیه بیماران پیوندی برای تشخیص ویروس BK انجام گرفته بود، فراوانی تغییرات در بافت کلیه ۱۳درصد گزارش گردیده بود (۱۲). سایر مطالعات نیز فراوانی کمتر تغییرات بافتی در بیوپسی کلیه در مقایسه با شیوع دفع ادراری را گزارش نموده‌اند. آمارهای متفاوت گزارش شده در مقالات محققین در مناطق مختلف دنیا می‌تواند نشان دهنده ارتباط فراوانی این ویروس با عواملی چون فرهنگ، اقتصاد جامعه و سطح بهداشت جوامع باشد (۶).

برخی مطالعات به وجود ارتباط بین عواملی چون جنسیت سن دوره رد حاد پیوند و فاصله زمانی بعد از پیوند و دیابت با فعالیت مجدد ویروس BK اشاره کرده‌اند (۱۸،۲۰،۲۱). در این تحقیق شیوع این ویروس‌ها را با عوامل ذکر شده مورد بررسی قرار دادیم:

در مطالعه حاضر شیوع ویروس BK در مردان ۲۰درصد و در زنان ۱۸درصد بوده ولی رابطه معنی‌داری بین جنسیت بیماران و شیوع ویروس BK به دست نیامد که این با مطالعات صورت گرفته توسط نمپوری در سال ۲۰۰۵، لوپز۲۰۱۰ در سال، سانده در سال ۲۰۱۰ مطابقت داشته است (۱۸،۲۲،۲۳).

در این مطالعه همچنین رابطه معنی‌داری بین سن بیماران وشیوع ویروس BK به دست نیامد این نتایج با مطالعات صورت گرفته توسط لوپز در سال ۲۰۱۰ مطابقت داشته (۲۳) ولی در

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعات مکنزی در سال ۱۹۷۸، هارمون در سال ۱۹۸۳، گاردنر در سال ۱۹۸۶ رابطه معنی‌داری بین سن بیشتر از ۵۰ سال در بیماران و شیوع این ویروس‌ها دیده شده است (۲۴).

میانگین میزان کراتینین در بیماران مثبت برای ویروس BK(۱/۴۲±۰/۵۸ mg/dl) بود و میزان کراتینین در بیماران منفی برای ویروس BK (۱/۴۳±۰/۴۵ mg/dl) بود. در مطالعه ما رابطه معنی‌داری بین میزان کراتنین بیماران و وجود ویروس BK در ادرار (ویروری) دریافت کنندگان به دست نیامد. درحالی‌که اکثریت مطالعات ارتباط بین وجود ویروس در خون (ویرمی) و نفروپاتی ناشی از عفونت ویروسی با افزایش کراتینین را گزارش کرده‌اند. برای مثال در مطالعه صورت گرفته توسط غفاری مقدم در سال ۲۰۰۸ در نمونه‌های بیوپسی بیماران این مرکز نیز رابطه معنی‌داری بین نفروپاتی ویروسی BK با افزایش میزان کراتنین گزارش گردیده است (۱۲).

ارتباط مابین نوع رژیم ایمنوساپرسیو با دفع ادراری ویروس در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفت. اگرچه شیوع ویروس BK در دریافت کنندگان گروه اول یعنی مایکوفنولات موفتیل، پردینزلون و سیکلوسپورین ۲۱/۵درصد و گروه دوم یعنی داروهای ازاتیوپرین، پردنیزولون و سیکلوسپورین A ۸/۷درصد بود ولی رابطه معنی‌داری بین استفاده از داروهای ایمنوساپرسیو و شیوع ویروس BKدر این مطالعه به دست نیامد. که این می‌تواند به دلیل پراکندگی حجم نمونه‌ها در دو گروه باشد. این نتایج با مطالعات صورت گرفته توسط نمپوری در سال ۲۰۰۵، بوهق در سال ۲۰۰۳ و مانتگنر در سال ۲۰۱۰ مطابقت داشت (۲۲،۲۶،۲۷).

از ریسک فاکتورهای ذکر شده دیگر برای افزایش شیوع این ویروس وجود بیماری دیابت در بیماران پیوند کلیه می‌باشد که در تحقیق حاضر از ۱۳۰ بیمار ۱۷ بیمار دارای دیابت بودند. شیوع ویروس BK در دیابتی‌ها ۲۳درصد در غیردیابتی‌ها ۱۸/۶درصد بود. ولی رابطه معنی‌داری بین دیابت در بیماران و شیوع ویروس BK به دست نیامد که این با مطالعات صورت گرفته توسط گاردنر در سال۱۹۸۶، آرتور در سال ۱۹۹۱، کوندو در سال ۱۹۹۸، نوو در سال ۱۹۹۸ و لوپز در سال۲۰۱۰ مطابقت داشته (۱۸،۲۳) ولی مک گیلوری و بهریق در مطالعاتشان رابطه معنی‌داری بین دیابت در بیماران پیوند کلیه و شیوع این ویروس گزارش نموده‌اند (۱۸،۲۷).

یافته‌های این تحقیق نشان داد که بیشترین میزان دفع ادراری ویروس BK در ۳۰ ماه اول بعد از پیوند در بیماران مورد مطالعه رخ می‌دهد و این میانگین به‌طور معنی‌داری کم‌تر از میانگین بیماران منفی یعنی ۵۵ ماه بود (P=۰/۰۱). دفع ادراری ویروس در طی ماه‌های اولیه بعد پیوند توسط سایر مطالعات گزارش شده است. از جمله سانده و همکارانش در سال۲۰۱۰ مثبت شدن ویروس BK را در ۳ تا ۶ ماه بعد از پیوند و کونتی ۵ ماه و هیرش و همکاران ۱۲ ماه گزارش کرده‌اند. تفاوت در میانگین مطالعه حاضر با مطالعات فوق مربوط به پراکندگی بیماران دریافت کننده از نظر مدت زمان سپری شده از دریافت پیوند کلیه در این مطالعه می‌باشد (۱۸،۲۷،۲۸).

اکثریت مطالعات مولکولی صورت گرفته بر پایه استخراج DNA ویروسی از نمونه‌های ادراری با استفاده از کیت‌های استخراج صورت پذیرفته است. در این روش علاوه بر صرف هزینه زیاد تهیه کیت‌های مصرفی به زمان قابل توجهی جهت انجام استخراج نیازمندیم. مقایسه نتایج PCR حاصل از ادرار مستقیم و DNA استخراجی از نمونه ادراری بیماران پیوندی در این مطالعه نشان داد که استفاده از هر دو روش فوق در تشخیص کیفی ویروس امکان‌پذیر می‌باشد. مشابه این نتایج توسط پنگ و همکارانش در سال ۲۰۰۸ که بر روی نمونه‌های ادراری بیماران پیوند کلیه با روش PCR گزارش گردیده است (۹).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که دفع ادراری ویروس BK در یک پنجم بیماران پیوند کلیه این مرکز اتفاق می‌افتد. عواملی مانند مدت زمان بعد پیوند و استفاده از داروی مایکوفنولات موفتیل، جنسیت مرد، دیابت می‌تواند با افزایش فعالیت ویروس BK ارتباط داشته باشد. تشخیص زود هنگام ویروس BK با روش مولکولی PCR در ادرار بیماران به تشخیص نفروپاتی و پیشگیری از دست دادن عضو پیوندی کمک شایانی می‌کند.

References:

1. Nickeleit V, Mihatsch MJ . Polyomavirus nephropathy in native kidneys and renal allografts: an update on an escalating threat. Transpl Int 2006 Dec; 19(12):960-73.
2. Boothpur R, Brennan DC. Human polyoma viruses and disease with emphasis on clinical BK and JC. J Clin Virol 2010; 47(4):306-12.
3. Eash S, Manley K, Gasparovic M, Querbes W, Atwood WJ. The human polyoma viruses. Cell Mol Life Sci 2006; 63(7-8):865-76.

Archive of SID

www.SID.ir

4. Mylonakis E, Goes N, Rubin RH, Cosimi AB, Colvin RB, Fishman JA. BK virus in solid organ transplant recipients: an emergingsyndrome. Transplantation 2001; 72:1587-92.
5. Nickeleit V, Singh HK, Gilliland MGF, Thompson D, Romeo C. Latent polyomavirus type BK loads in native kidneys analyzed by TaqMan PCR: what can be learned to better understand BK virus nephropathy? J Am Soc Nephrol 2003; 14: 424.
6. Rodrigues C, Pinto D, Medeiros R. Molecular epidemiology characterization of the urinary excretion of polyomavirus in healthy individuals from Portugal- a Southern European Population. J Med Virol 2007 Aug; 79(8): 1194-8.
7. Nickeleit V, Hirsch HH, Binet IF, Gudat F, Prince O, Dalquen P, et al. Polyomavirus infection of renal allograftrecipients: from latent infection to manifest disease. J Am Soc Nephrol 1999 May; 10(5):1080-9.
8. Arthur RR, Dagostin S, Shah KV. Detection of BK virus and JC virus in urine and brain tissue by the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1989 Jun; 27(6):1174-9.
9. Pang XL, Martin K, Preiksaitis JK. The use of unprocessed urine samples for detecting and monitoring BK viruses in renal transplant recipients by a quantitative real-time PCR assay. J Virol Methods 2008 Apr; 149(1):118-22.
10. Whiley DM, Mackay IM, Sloots DP. Detection and differentiation of human polyoma viruses JC and BK by Light Cycler PCR. J Clin Microbiol 2001; 39: 4357-61.
11. Geramizadeh B, Roozbeh J, Malek-Hosseini SA, Azarpira N, Ayatollahi M, Salahi H. Urine cytology as a useful screening method for polyoma virus nephropathy in renal transplant patients: a single-center experience. Transplant Proc 2006 Nov; 38(9):2923-5.
12. Ghafari A, Lessan-Pezeshki M, Taghizadieh M, Rahimi E. BK polyoma virus nephropathy among Iranian renal transplant recipients. Transplant Proc 2008 Jan-Feb; 40 (1): 193-5.
13. Samarbasf-Zadeh A, Makvandi M, Kayedani1 Gh, Shahbazian H. Prevalence of BK virus in renal allograft recipients pre and post transplantation in Iran. Jundishapur J Microbiol 2009; 2(2): 47-52.
14. Kazory A, Ducloux D, Chalopin JM, Angonin R, Fontaniere B, Moret H. The first case of JC virus allograft nephropathy. Transplantation 2003; 76:1653-5.
15. Reploeg M, Storch G, Clifford D. BK virus: a clinical review. Clin Infect Dis 2001; 33: 191-203.
16. Bohl DL, Brennan DC. BK virus nephropathy and kidney transplantation. Clin J Am Soc Nephrol 2007 Jul; 2 Suppl 1:S36-46.
17. Costa C, Bergallo M, Sidoti F, Astegiano S, Terlizzi ME, Mazzucco G, et al. Polyomaviruses BK- and JC-DNA quantitation in kidney allograft biopsies. J Clin Virol 2009 Jan; 44(1):20-3.
18. Saundh B, Tibble S, Baker R, Sasnauskas K, Harris M, Hale A. Different patterns of BK and JC polyomavirus reactivation following renal transplantation. J Clin Pathol 2010; 63: 714-18.
19. Wu ZB, Lin GB, Zeng AP, Chen ZQ, Chen J, Zheng MQ, et al. Detection of BK virus infection in renal transplant recipients and clinical application. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi 2010 Oct; 24(5):367-9 2010; 24(5):367-9. (Chinese)
20. Vasudev B, Hussain SA. BK virus nephritis: risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients. Kidney Int 2005; 68: 1834-9.
21. Kantarci G, Eren Z, Demiragfl A, Dogan I, Cakalagaoglu F, Yilmaz G. JC virus -associated nephropathy in a renal transplant recipient and comparative analysis of previous cases. Transpl Infect Dis 2011: 13; 89-92.

Archive of SID

www.SID.ir

22. Nampoory MR, Johny KV, Pacsa A, Nair PM, Said T, Halim MA, et al. BK virus nephropathy in renal transplant recipients in Kuwait: a preliminary report. Transplant Proc 2005 Sep; 37(7):3048-50.
23. Lopez V, Gutierrez C, Sola E, Garcia I, Burgos D, Cabello M, et al. Does JC polyomavirus cause nephropathy in renal transplant patients? Transplant Proc 2010 Oct; 42(8): 2889-91.
24. Prince O, Savic S, Dickenmann M, Steiger J, Bubendorf L, Mihatsch MJ. Risk factors for polyoma virus nephropathy. Nephrol Dial Transplant 2009; 24: 1024-33.
25. Helanterä I, Ortiz F, Auvinen E, Räisänen-Sokolowski A, Lappalainen M, Lautenschlager I. Polyomavirus BK and JC infections in well matched Finnish kidney transplant recipients. Org Transpl 2009; 22: 688-93.
26. Montagner J, Michelon T, Fontanelle B, Oliveira A, Silveira J, Schroeder R. BKV-infection in kidney graft dysfunction. Braz J Infect Dis 2010; 14(2):170-4.
27. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD, Kreps MA, Kremers WK, Gloor JM, et al. Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy. Kidney Int 2003; 64: 665-3.
28. Li RM, Mannon RB, Kleiner D, Tsokos M, Bynum M, Kirk AD, et al. BK virus and SV40 coinfection in polyomavirus nephropathy. Transplantation 2002 Dec 15; 74(11):1497-504.
29. Sessa A, Esposito A, Giliberti A, Bergallo M, Costa C, Rossano R, et al. BKV reactivation in renal transplant recipients: diagnostic and therapeutic strategy - case reports. Transplant Proc 2008 Jul-Aug; 40(6):2055-8.

Archive of SID

www.SID.ir